

388

⑩ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ Offenlegungsschrift  
⑪ DE 3803972 A1

⑮ Aktenzeichen: P 38 03 972.9  
⑮ Anmeldetag: 5. 2. 88  
⑮ Offenlegungstag: 10. 8. 89

⑮ Int. Cl. 4:  
A61 K 49/00

B 01 J 13/02  
C 08 J 3/14  
// (B01J 13/02,  
C08L 67:04,33:14,  
33:26,31:02,69:00,  
67:02,75:04,77:00,  
89:00,  
79:08)C08B 37/02,  
31/04,C07C 21/073,  
19/02, 19/08,11/173,  
11/10,9/14,11/22,  
13/10,13/12,43/06

DE 3803972 A1

*Behördenstempel*

⑰ Anmelder:  
Schering AG, Berlin und Bergkamen, 1000 Berlin, DE  
⑰ Vertreter:  
Malkowsky, M., Dipl.-Ing. Dr.-Ing., Pat.-Anw., 1000  
Berlin

⑰ Erfinder:  
Stein, Michael, Dr.; Heldmann, Dieter; Fritzsche,  
Thomas, Dr.; Siebert, Joachim, Dr.; Rößling, Georg,  
Dr., 1000 Berlin, DE

Prüfungsentwurf gem. § 44 PatG ist gestellt

⑮ Ultraschallkontrastmittel

Die Erfindung betrifft Ultraschallkontrastmittel, bestehend aus Mikropartikel einer löslichen polymeren Hüllsubstanz, und erfindungsgemäß besteht die Hüllsubstanz aus synthetischem polymeren Material.

DE 3803972 A1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft Mikropartikel nach dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1 und Verfahren zu deren Herstellung.

Es ist bekannt, daß durch periphere Injektion von Lösungen, die feine Gasblasen enthalten, cardiale Echo-kontraste erzielt werden können (Roelandt J, Ultra-sound Med Biol 8:471-482, 1982). Diese Gasblasen werden in physiologisch verträglichen Lösungen z. B. durch Schütteln, andere Agitation oder durch Zusatz von Kohlendioxid erhalten. Sie sind jedoch hinsichtlich Anzahl und Größe nicht standardisiert und können nur unzulänglich reproduziert werden. Auch sind sie in der Regel nicht stabilisiert, so daß ihre Lebensdauer gering ist. Ihre mittleren Durchmesser liegen meist über Erythrocytengröße, so daß keine Lungenkapillarpassage mit nachfolgender Kontrastierung von Organen wie linkes Herz, Leber, Niere oder Milz möglich ist. Darüberhinaus eignen sie sich nicht für Quantifizierungen, da sich das von ihnen erzeugte Ultraschallecho aus mehreren, nicht voneinander zu trennenden Prozessen wie Blasenentstehung, Koaleszenz und Auflösung zusammensetzt. So ist es z. B. nicht möglich, mit Hilfe dieser Ultraschall-Kontrastmittel über die Messung des Kontrastverlustes im Myokard Aussagen über die Transisten zu gewinnen. Hierzu sind Kontrastmittel notwendig, deren Strukturkörper keiner eigenen Kinetik unterliegen.

In der EP A2 01 31 540 ist die Stabilisierung der Gasblasen durch Zucker beschrieben. Damit wird zwar die Reproduzierbarkeit und Homogenität des Kontrasteffektes verbessert, eine Lungenpassage überstehen diese Blasen jedoch nicht.

In den EP A2 01 22 624 und 01 23 235 wird beschrieben, daß der gasblasenstabilisierende Effekt von Zuckern, Zuckeralkoholen und Salzen durch Zusatz von Tensiden verbessert wird. Eine Lungenkapillargängigkeit und die Möglichkeit zur Darstellung des arteriellen Gefäßsystems und verschiedener Organe wie Leber oder Milz ist bei diesen Ultraschallkontrastmitteln gegeben. Der Kontrasteffekt ist hierbei jedoch auf das Gefäßlumen beschränkt, da die Bläschen nicht von den Gewebezellen aufgenommen werden.

Keines der bisher bekannten Ultraschall-Kontrastmittel verbleibt längere Zeit unverändert im Körper. Eine Organdarstellung mit ausreichender Signalintensität durch selektive Anreicherung nach i. v. Gabe oder Quantifizierungen sind daher z. Z. nicht möglich.

Eine Verkapselung von Gasen, wie beispielsweise Luft als Ultraschall-Kontrastmittel wird in der EP A2 02 24 934 beschrieben. Das hierbei verwendete Wandmaterial besteht aus Protein, insbesondere menschliches Serumalbumin mit den bekannten allergenen Eigenschaften, zu denen durch eine Denaturierung cytotoxische Effekte hinzukommen können.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Mikropartikel zu schaffen, die neben bestimmtem und reproduzierbarem Volumen eine erheblich längere Lebensdauer als bisher bekannt aufweisen und intrazellulär in RES und damit auch in der Leber oder Milz angereichert werden können.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch Mikropartikel, die eine Hüllsubstanz aus bioabbaubarem synthetischem Material aufweisen, gelöst.

Das synthetische polymere Material wird aus der nachfolgenden Gruppe ausgewählt:

Polymilchsäure  
Poly E-caprolacton

Copolymere aus Polymilchsäure und Polyglykolsäure oder

Poly E-caprolacton

Polyhydroxybuttersäure

Polyhydroxyvaleriansäure

Copolymere aus Polyhydroxybutter- und -valeriansäure

Poly(ε-aminosäuren) wie z. B. Polyglutaminsäure oder

Polylysine

Polyalkylcyanoacrylate

Polydioxanon

Polymid wie z. B. aus L-Lysin oder Polypeptiden und

Terephthalsäure, Phthalsäure oder Sebacylsäure

Polyacrylonitril

Polyacrylnitril

Polyacrylsäure

Polyacrylsäure

Polyurethan

Polyester

Poly(ortho)ester

Polyacetal

Polyamintriazol

Mit Vorteil enthalten die Mikropartikel Gase und/oder Flüssigkeiten mit einem Siedepunkt unter 60°C in freier oder gebundener Form.

Als Gase werden bevorzugt Luft, Stickstoff, Edelgase, Wasserstoff, Kohlendioxid, Ammoniak oder Sauerstoff verwendet.

Als einschließbare Flüssigkeiten werden bevorzugt Flüssigkeiten aus folgender Gruppe ausgewählt:

1,1 Dichlorethylen

2 Methyl 2 Buten

Isopropylchlorid

2 Methyl 1,3 Butadien

2 Butin

2 Methyl 1 Buten

Dibromdifluormethan

Furan

3 Methyl 1 Buten

Isopentan

Diethylether

1,3 Dimethyl 1 Butin

Dimethylaminosäuren

Propyloxid

N-Ethylmethylamin

Brommethan

N-Ethylmethylamin

Methylenchlorid

Pentan

Cyclopentan

2,3-Pentadien

Cyclopenten

Ein besonders vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Ultraschallkontrastmittel besteht darin, daß ein Polymer oder ein Copolymer in einem oder mehreren mit Wasser nicht mischbaren, organischen Lösungsmitteln gelöst und anschließend ggf. nach Zusatz eines weiteren Lösungsmittels in Wasser emulgiert werden und die erhaltende Emulsion anschließend filtriert, ggf. getrocknet wird.

Ein alternatives Verfahren besteht darin, daß ein Polymer oder ein Copolymer in einem oder mehreren Gasblasen enthaltenden Lösungsmitteln gelöst und anschließend ggf. nach Zusatz eines weiteren Lösungsmittels oder eines weiteren Polymeren aufschlämmt oder in Wasser emulgiert werden und die erhaltende Suspension oder Emulsion anschließend filtriert, ggf. getrocknet wird.

Mit Vorteil können die erhaltenen Produkte fein ge-

mahlen werden.

Bei diesen Verfahren wird als Lösungsmittel Furan, Pentan, Aceton, Dioxan, Ethylacetat, p-Xylol, Methylenchlorid, Cyclohexan oder n-Hexan oder ein daraus bestehendes Lösungsmittelgemisch verwendet. Der Emulsion wird insbesondere ein Emulgator zugesetzt.

In einer Modifikation des Herstellungsverfahrens wird nicht von einem Polymeren ausgegangen, sondern von Monomeren, aus denen das Polymer der Hüllsubstanz gebildet wird. Dabei wird so gearbeitet, daß ein Monomer in einem oder mehreren organischen Lösungsmitteln gelöst und in 5–30 Teilen Wasser oder 0,01–0,1 N Salzsäure ggf. unter Zusatz von Emulgatoren oder Puffersubstanzen bei einer Temperatur unterhalb des Siedepunkts des organischen Lösungsmittels emulgiert wird und dieser Emulsion eine 0,2%–20%ige wäßrige Lösung eines zweiten Monomeren oder ggf. die Lösung einer pH-Wert erhöhenden Substanz zugegeben und ggf. getrocknet wird.

Bei einer abgeänderten Arbeitsweise wird ein Monomer in einem oder mehreren Gasblasen enthaltenden Lösungsmitteln ggf. unter Zusatz von Emulgatoren oder Puffersubstanzen gelöst und dieser Lösung wird ggf. eine 0,2%–20%ige Lösung eines zweiten Monomeren oder eine pH-Wert erhöhende Substanz in gelöster oder gasförmiger Form zugegeben und ggf. getrocknet.

Als erstes Monomer wird Terephthaloyl- oder Sebacyloylchlorid oder Cyanoacrylsäureester, als zweites Monomer L-Lysin und als organisches Lösungsmittel beispielsweise 2 Methyl 1,3 Butadien, Dioxan, Methylenchlorid, Toluol oder Cyclohexan verwendet.

Gemäß einem weiteren Verfahren werden die Ultraschallkontrastmittel dadurch hergestellt, daß in einer 0,5–10%igen wäßrigen Lösung eines Monomeren, die ggf. Zusätze wie Emulgatoren (0,01–5%) oder Quasieulgatoren (0,1–5%) enthält, Gasblasen erzeugt und danach eine quervernetzende Substanz und/oder ein Reaktionsstarter zugesetzt werden.

Die im vorstehend beschriebenen Ultraschallkontrastmittel werden insbesondere für diagnostische oder therapeutische Verfahren verwendet.

Die Erfindung wird durch folgende Beispiele erläutert:

#### Beispiel 1:

500 mg Polylactid werden in 4 ml Furan und 0,5 ml Cyclohexan gelöst und diese Lösung in 40 ml, die 0,1%iger Pluronic F 127-Lösung enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 15°C gehalten wird. Die Temperatur wird anschließend zur Verdampfung des org. Lösungsmittels langsam erhöht. Anschließend wird die entstandene Suspension gefriergetrocknet.

#### Beispiel 2:

300 mg α-Cyanoacrylsäurebutylester werden in 1 ml Furan gelöst und diese Lösung in 10 ml 0,1 N HCl, die 1% Pluronic F127 enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 15°C gehalten wird. Nach Abschluß der Polymerisation wird die entstandene Suspension gefriergetrocknet.

#### Beispiel 3:

200 mg α-Cyanoacrylsäurebutylester werden in 0,4 ml Isopren gelöst und in 30 ml 0,01 N HCl, die 1% Pluronic

F68 enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 10°C gehalten wird. Nach Abschluß der Polymerisation wird die Suspension mit 0,1 N NaOH neutralisiert und mit NaCl isotonisiert.

#### Beispiel 4:

400 mg α-Cyanoacrylsäurebutylester werden in 0,4 ml Methylenchlorid gelöst und in 60 ml 0,01 N HCl, die 1% Pluronic F127 enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 10°C gehalten wird. Nach Abschluß der Polymerisation wird die Suspension mit 0,1 N NaOH neutralisiert und mit NaCl isotonisiert.

#### Patentansprüche

1. Ultraschallkontrastmittel bestehend aus Mikropartikeln einer bioabbaubaren polymeren Hüllsubstanz dadurch gekennzeichnet, daß die Hüllsubstanz aus synthetischem polymeren Material besteht.

2. Ultraschallkontrastmittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das synthetische Material aus der nachfolgenden Gruppe von Verbindungen ausgewählt wird:

Polymilchsäure  
Poly ε-caprolacton  
Copolymere aus Polymilchsäure und Polyglykolsäure  
oder Poly ε-caprolacton  
Polyhydroxybuttersäure  
Polyhydroxyvaleriansäure  
Copolymere aus Polyhydroxybutter- und valeriansäure  
Poly(aminosäuren) wie z. B. Polyglutaminsäure oder  
Polylysin  
Polyalkylcyanoacrylate  
Polydioxanon  
Polyamid wie z. B. aus L-Lysin oder Polypeptiden und  
Terephthalsäure, Phthalsäure oder Sebacylsäure  
Polysacryldextran  
Polysacrylstärke  
Polysacrylsaccharid  
Polysacrylamid  
Polyurethan  
Polyester  
Poly(ortho)ester  
Polyacetat  
Polyaminotriazol.

3. Ultraschallkontrastmittel nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikropartikel Gase und/oder Flüssigkeiten mit einem Siedepunkt unter 60°C in freier oder gebundener Form eingeschlossen enthalten.

4. Ultraschallkontrastmittel nach mindestens einem der Ansprüche 1–3, dadurch gekennzeichnet, daß als Gase Luft, Stickstoff, Edelgase, Wasserstoff, Kohlendioxid, Ammoniak oder Sauerstoff verwendet werden.

5. Ultraschallkontrastmittel nach mindestens einem der Ansprüche 1–4, dadurch gekennzeichnet, daß die eingeschlossenen Flüssigkeiten aus der Gruppe

1.1 Dichlorethylen  
2 Methyl 2 Buten  
Isopropylchlorid  
2 Methyl 1,3 Butadien

2 Butin  
2 Methyl 1 Buten  
Dibromdifluormethan  
Furan  
3 Methyl 1 Buten  
Isopentan  
Diäthylether  
3,3 Dimethyl 1 Butin  
Dimethylaminoacetone  
Propylenoxid  
N-Ethylmethylanilin  
Brommethan  
N-Ethylmethylanilin  
Methylenchlorid  
Pentan  
Cyclopentan  
2,3-Pentadien  
Cyclopentan  
ausgewählt werden.

6. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkon-  
trastmitteln nach mindestens einem der Ansprü-  
che 1—5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Polymer  
oder Copolymer in einem oder mehreren, mit Was-  
ser nicht mischbaren, organischen Lösungsmitteln  
gelöst und anschließend ggf. nach Zusatz eines wei-  
teren Lösungsmittels in Wasser emulgiert werden  
und die erhaltene Emulsion anschließend filtriert,  
ggf. getrocknet wird.

7. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkon-  
trastmitteln nach mindestens einem der Ansprü-  
che 1—5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Polymer  
oder Copolymer in einem oder mehreren, Gasblas-  
sen enthaltenden Lösungsmitteln gelöst und an-  
schließend ggf. nach Zusatz eines weiteren Lö-  
sungsmittels oder eines weiteren Polymeren aus-  
gefällt oder in Wasser emulgiert und die erhaltene  
Suspension oder Emulsion anschließend filtriert,  
ggf. getrocknet wird.

8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, dadurch ge-  
kennzeichnet, daß als Polymer ein Polymer gem.  
Anspruch 2 verwendet wird.

9. Verfahren nach mindestens einem der Ansprü-  
che 6—8, dadurch gekennzeichnet, daß als Lö-  
sungsmittel Furan, Pentan, Aceton, Dioxan, Ethyl-  
acetat, p-Xylol, Methylenchlorid, Cyclohexan oder  
n-Hexan oder ein daraus bestehendes Lösungsmittel-  
gemisch verwendet wird.

10. Verfahren nach mindestens einem der Ansprü-  
che 6—9, dadurch gekennzeichnet, daß der Emul-  
sion ein Emulgator zugesetzt wird.

11. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkon-  
trastmitteln nach mindestens einem der Ansprü-  
che 1—5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mono-  
mer in einem oder mehreren organischen, Lösungs-  
mitteln gelöst und in 3—30 Teilen Wasser oder  
0,01—0,1 N Salzsäure ggf. unter Zusatz von Emul-  
gatoren oder Puffersubstanzen bei einer Tempera-  
tur unterhalb des Siedepunkts des organischen Lö-  
sungsmittels emulgiert wird und dieser Emulsion  
eine 0,2%—20%ige wäßrige Lösung eines zweiten  
Monomeren oder ggf. die Lösung einer pH-Wert  
erhöhenden Substanz zugegeben und ggf. getrock-  
net wird.

12. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkon-  
trastmitteln nach mindestens einem der Ansprü-  
che 1—5, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mono-  
mer in einem oder mehreren Gasblasen enthal-  
tenden Lösungsmitteln ggf. unter Zusatz von Emulga-

toren oder Puffersubstanzen gelöst wird und dieser  
Lösung ggf. eine 0,2%—20%ige Lösung eines  
zweiten Monomeren oder eine pH-Wert erhöhende  
Substanz in gelöst oder gasförmiger Form zu-  
gegeben und ggf. getrocknet werden.

13. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekenn-  
zeichnet, daß als erstes Monomer Terephthaloyl-  
oder Sebacylchlorid oder Cyanoacrylsäureester, als  
zweites Monomer L-Lysin und als organisches Lö-  
sungsmittel 2 Methyl 1,3 Butadien, Methylenchlorid,  
Toluol, Dioxan oder Cyclohexan verwendet  
wird.

14. Verfahren nach mindestens einem der Ansprü-  
che 6, 7, 11, 12, dadurch gekennzeichnet, daß das  
Endprodukt fein gemahlen wird.

15. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkon-  
trastmitteln nach mindestens einem der Ansprü-  
che 1—5, dadurch gekennzeichnet, daß in einer  
0,5—10%igen wäßrigen Lösung eines Monomeren,  
die ggf. Zusätze wie Emulgatoren (0,01—5%) oder  
Quasiemulgatoren (0,1—5%) enthält, Gasblasen er-  
zeugt und danach eine quervernetzende Substanz  
und/oder ein Reaktionsstarter zugesetzt werden.

16. Verwendung der Ultraschallkontrastmittel nach  
mindestens einem der Ansprüche 1—5 für diagno-  
stische oder therapeutische Verfahren.